ĐỒNG HÓA NHẰM NÂNG CAO TÍNH CHẤT HUYỀN PHÙ "SUBMICRON CURCUMIN"

Lê Thị Hồng Nhan[(1)], Hồ Thị Ngọc Sương[(2)]
[(1)]ĐH Bách Khoa Tp.HCM
[(2)]ĐH Công Nghiệp Thực Phẩm Tp.HCM

Ngày gửi bài: 01/6/2015 **Ngày chấp nhận đăng: 16/6/2015**

TÓM TẮT

Huyền phù tự do của curcumin được chuẩn bị trực tiếp từ dịch trích cồn với cách sục hơi nước ở áp suất 5atm có kích thước khoảng 489nm. Nhằm nâng cao tính chất của huyền phù, trong bài báo này sử dụng phương pháp đồng hóa tốc độ cao không dùng hóa chất hỗ trợ có thể điều chế được "submicron curcumin" có đường kính trung bình 402nm với tốc độ 1000v/p và trong khoảng thời gian là 30 phút.

Từ khóa: Nanocurcumin, đồng hóa, nghệ vàng, huyền phù, kích thước hạt nano.

ABSTRACT

The free suspension of nanocurcumin was directly prepared from alcoholic extracts with steam injection. The smallest diameter of the "submicron curcumin" was about 489nm in the case of steam pressure of 5atm. For increasing the quality of nanocurcumin suspension, the high-speed homogenization technique, 1000rpm and 30minutes, was applied. The results showed that the particle size was obtained approximately 402nm.

Keywords: Nanocurcumin, homogenization, Curcuma Longa L, suspension, nanoparticle size.

1. GIỚI THIỆU

Nghệ vàng là một loại dược thảo thiên nhiên có từ lâu đời và được sử dụng rộng rãi trong nhiều lĩnh vực như y học, mỹ phẩm, thực phẩm… Trong đó thành phần quan trọng nhất mang lại hoạt tính sinh học cao cho nghệ là curcumin. Tuy nhiên curcumin có độ hòa tan và độ phân tán trong môi trường nước thấp do đó khả năng hấp thu vào cơ thể kém. Tính chất này đã làm hạn chế đáng kể khả năng ứng dụng của curcumin trong thực tế. Nhằm nâng cao giá trị sử dụng của curcumin, các nhóm nghiên cứu trên thế giới đã và đang nghiên cứu cải thiện độ tan và độ phân tán của curcumin trong môi trường nước theo định hướng của công nghệ hạt nano.

Tính chất vật lý và quang học của vật liệu nano khác biệt so với vật liệu có kích thước lớn. Nhiệt độ nóng chảy vật liệu ở kích thước nano giảm đáng kể so với vật liệu dạng khối. Do có kích thước nhỏ nên vật liệu nano thể hiện tính chất từ, quang, điện đặc biệt, vì vậy chúng được ứng dụng nhiều trong liệu pháp chữa bệnh như chẩn đoán và ghi nhận hình ảnh, đặc biệt là phát hiện các khối u [1]. Vì vật liệu nano có những tính chất quan trọng như vậy nên các nhà nghiên cứu đã đưa vào nghiên cứu các hạt curcumin dựa trên kích thước nanomet.

Curcumin có những hoạt tính sinh học chủ yếu như kháng oxy hóa [3, 8], kháng viêm [4, 6], chống đông máu, chống tổn thương tế bào [5], kháng virus [2], chống bịnh tiểu đường, chống nhiều loại ung thư [7, 9]…

Kích thước hạt giảm xuống nano nên phù hợp kích thước khe hở và lỗ trên thành tế bào và mô, do đó curcumin dễ dàng di chuyển vào cơ thể con người.

2. THỰC NGHIỆM

Huyền phù "submicron curcumin" sau khi sục hơi nước được đem khảo sát với máy đồng hóa tốc độ cao SY, dành cho quy mô pilot, tốc độ max 11000 rpm tại phòng thí nghiệm hữu cơ – ĐH Bách Khoa TPHCM

Kích thước của hệ phân tán được xác định bằng thiết bị đo phân bố kích thước hạt DLS (Dynamic light scattering) sử dụng máy Horiba LA 920 tại phòng thí nghiệm trọng điểm quốc gia – Vật liệu Polymer & Composite. Đo DLS cũng đồng thời sử dụng máy Philip E. Plantz, PhD ở trường Đại học Cần Thơ. Chụp SEM sử dụng máy JFM-7401F ở Viện Khoa học và Công nghệ. Phân tích TEM được thực hiện tại Phòng Thí Nghiệm trọng điểm quốc gia – Vật liệu Polymer & Composit.

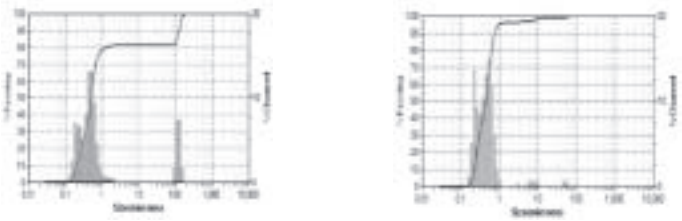
3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

Theo như nghiên cứu trước, huyền phù tự do của curcumin được chuẩn bị trực tiếp từ dịch trích cồn với cách sục hơi nước ở áp suất 5atm có kích thước khoảng 489 nm. Tuy nhiên kích thước hạt còn lớn và phân bố hạt chưa được đồng đều. Do vậy, phương pháp đồng hóa nhằm nâng cao tính chất của "submicron curcumin" được tiến hành.

3.1. Khảo sát yếu tố tốc độ đến kích thước hạt sau đồng hóa

Sau quá trình khảo sát đồng hóa theo các tốc độ 1000v/p, 1750v/p, 2000v/p , kết quả thu được như sau:

Với tốc độ 1000v/p, kết quả thu được huyền phù với đường kính trung bình hạt 422nm. Khi tăng tốc độ lên 1750v/p và vẫn giữ nguyên thời gian, kết quả thu được huyền phù với đường kính trung bình hạt là 660nm.Tiếp tục tăng tốc độ lên 2000v/p thì xảy ra tách pha và các hạt kết lại trên thành thiết bị. Do vậy, tốc độ khi đồng hóa trên thiết bị SY này không nên tăng quá cao.

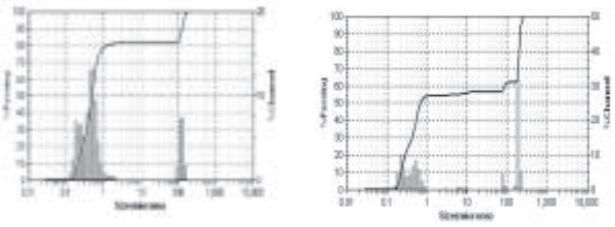


(a)Trước đồng hóa *(b)Sau đồng hóa tốc độ 1000v/p*

Hình 1. Phân bố đường kính hạt của huyền phù trước và sau đồng hóa trên máy SY

Phân bố đường kính hạt của huyền phù curcumin trước và sau khi đồng hóa với tốc độ 1000v/p trên máy SY được thể hiện trên hình 1. Trước đồng hóa, kích thước hạt tập trung ở vùng 0,1 - 1µm (kích thước trung bình hạt 498nm), và có thêm vùng với kích thước hạt khoảng 100µm. Tuy nhiên, sau khi đồng hóa chúng tôi thấy rằng vùng có kích thước lớn (100µm) không còn nữa, kích thước hạt trung bình giảm xuống chỉ còn 422nm, vẫn còn tồn tại hai vùng có kích thước lớn ở khoảng 10µm và 50µm nhưng không đáng kể.

Khi đồng hóa với tốc độ 1750v/p, kết quả được thể hiện trên hình 2



(a)Trước đồng hóa *(b)Đồng hóa với tốc độ 1750v/p*

Hình 2. Phân bố đường kính hạt của dịch trước và sau khi đồng hóa trên máy SY

Theo kết quả đo DLS, khi đồng hóa với tốc độ 1750v/p trên máy SY, kích thước trung bình hạt lớn lên (660nm), vùng kích thước 100µm vẫn còn và chiếm phần trăm cao hơn (30%), so với trước đồng hóa vùng này chỉ chiếm 20%. Với các kết quả trên thì tốc độ càng lớn, kích thước hạt tạo ra càng lớn. Có thể nói rằng, tốc độ càng lớn thì khả năng kết dính các hạt lại với nhau càng cao. Và tốc độ khi cao quá sẽ dẫn đến kết quả bị phá mẫu, nồng độ curcumin bị giảm xuống rất nhiều. Tuy nhiên có thể dự đoán rằng quá trình đồng hóa ít nhiều ảnh hưởng bởi yếu tố nồng độ, do đó khảo sát tiếp theo là về yếu tố nồng độ và khảo sát với tốc độ 1000v/p.

3.2. Ảnh hưởng yếu tố nồng độ đến kích thước hạt sau đồng hóa

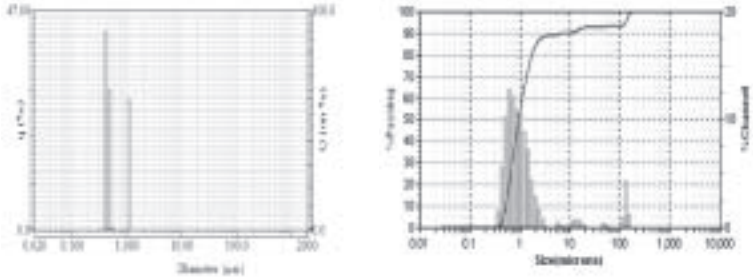
Yếu tố nồng độ rất quan trọng trong quy trình chế tạo huyền phù "nanocurcumin", vì lẽ phải thu được nồng độ cao nhất để đạt hiệu quả về kinh tế cũng như giá trị về mặt khoa học. Do đó yếu tố về nồng độ đã được khảo sát.

Sau khi khảo sát với các yếu tố nồng độ huyền phù (CLS), kết quả được thể hiện ở bảng 1.

Ban đầu, khi đem đồng hóa huyền phù có kích thước trung bình là 461nm và nồng độ 0,33g/l thì huyền phù thu được có đường kính trung bình hạt là 921nm và có nồng độ 0,317g/l. Trên hình 3, với mức nồng độ này thì kích thước hạt của mẫu sau đồng hóa không giảm mà bị kết tụ lại với nhau, kích thước trung bình hạt cao (921nm) và xuất hiện các vùng có kích thước từ 10 – 100µm. Như vậy, với huyền phù có nồng độ cao, khi đồng hóa các hạt sẽ chuyển động lại gần nhau và dễ dàng kết tụ lại.

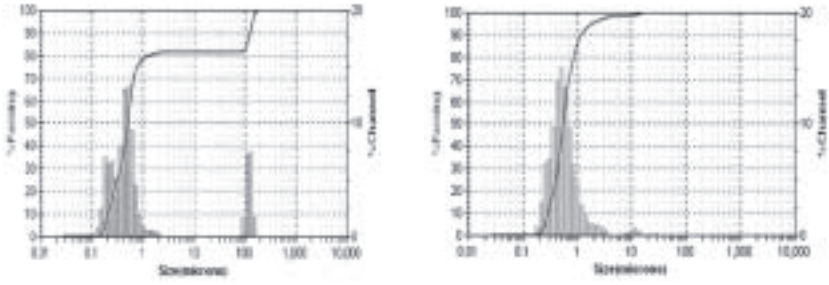
Bảng 1. Kết quả sau đồng hóa ở các nồng độ khác nhau trên máy đồng hóa SY

Mẫu	d_0 (nm)	C_{LS} (g/l)	d (nm)	C_s (g/l)
1	461	0,33	921	0,317
2	489	0,16	540	0,152
3	489	0,144	422	0,124



(a)Huyền phù trước đồng hóa có nồng độ 0,33g/l *(b)Huyền phù sau đồng hóa*

Hình 3. Phân bố đường kính hạt của huyền phù (0,33g/l) trước và sau đồng hóa trên máy SY

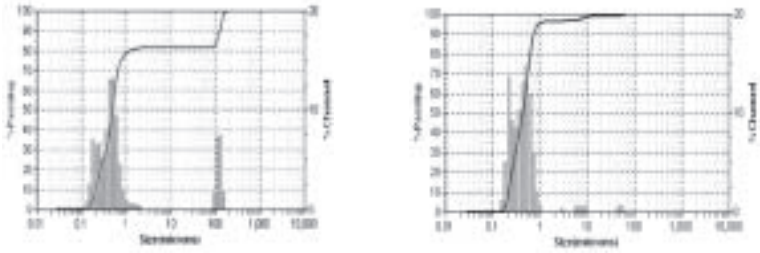


(a) Huyền phù trước đồng hóa có nồng độ 0,16g/l *(b)Huyền phù sau đồng hóa*

Hình 4. Phân bố đường kính hạt của huyền phù (0,16g/l) trước và sau đồng hóa trên máy SY

Tiếp tục đồng hóa với huyền phù có nồng độ thấp hơn (0,16g/l) và đường kính trung bình hạt ban đầu là 489nm thì kết quả thu được có nồng độ 0,152g/l và đường kính trung bình hạt là 540nm, vùng có kích thước lớn (100µm) đã biến mất và chỉ xuất hiện lại vùng có kích thước khoảng 10µm (Hình 4).

Tiếp tục đồng hóa huyền phù có nồng độ 0,144g/l và đường kính trung bình hạt 489nm. Kết quả thu được huyền phù có nồng độ 0,124g/l và đường kính trung bình hạt là 422nm (hình 5). Tuy nhiên vẫn còn tồn tại hai vùng có kích thước lớn ở khoảng 10µm và 50µm nhưng rất nhỏ không đáng kể. Chúng tôi chỉ khảo sát đến mức nồng độ này vì ở nồng độ thấp hơn thì không có ý nghĩa.



(a)Huyền phù trước đồng hóa có nồng độ 0,144g/l *(b)Huyền phù sau đồng hóa*

Hình 5. Phân bố đường kính hạt của huyền phù (0,144g/l) trước và sau đồng hóa trên máy SY

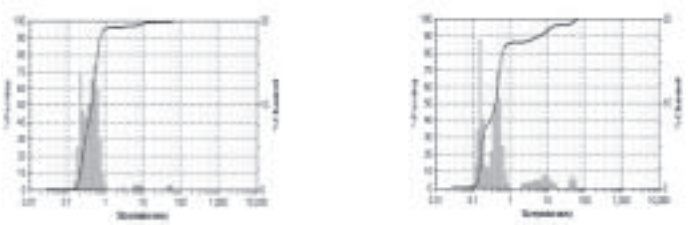
Như vậy qua khảo sát với ba mức nồng độ thì thấy rằng nồng độ càng nhỏ thì quá trình đồng hóa càng tốt, kích thước trung bình hạt đạt được càng nhỏ và mức độ phân bố càng đồng đều. Với nồng độ lớn thì khi đồng hóa đã không làm cho kích thước hạt nhỏ lại mà kích thước lại lớn hơn so với trước khi đồng hóa.

Có thể nói rằng khi nồng độ càng cao thì khoảng cách giữa các hạt thu nhỏ lại và khi khuấy với tốc độ nhanh làm cho các hạt dễ dính lại với nhau tạo nên kích thước lớn. Như vậy với nồng độ 0,144/g/l thì thích hợp nhất để đồng hóa, vì vừa cho kích thước trung bình hạt nhỏ, phân bố đồng đều và lại là mức nồng độ cao nhất có thể. Tuy nhiên kích thước trung bình hạt ở đây còn lớn nên chúng tôi khảo sát thêm về yếu tố thời gian.

3.3. Ảnh hưởng yếu tố thời gian đến kích thước hạt sau đồng hóa

Sau khi đồng hóa với thời gian 30 phút, 60 phút, kết quả thu được như sau:

Khi đồng hóa với tốc độ 1000v/p trong khoảng thời gian là 30 phút của mẫu có nồng độ là 0,144g/l và đường kính trung bình hạt là 489nm thì thu được dịch huyền phù có kích thước hạt là 422nm với nồng độ là 0,124g/l.



(a)Dịch đồng hóa 30 phút *(b) Dịch đồng hóa 60 phút*

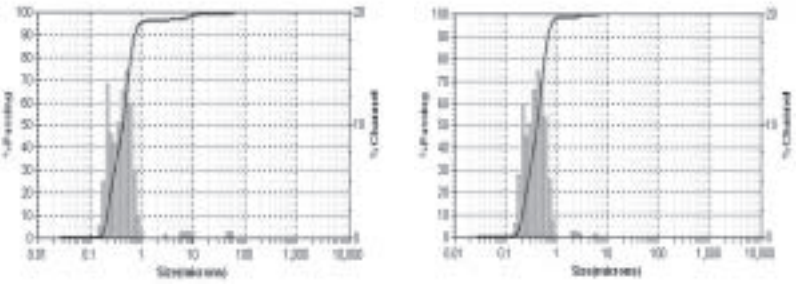
Hình 6. Phân bố đường kính hạt của dịch sau đồng hóa trên máy SY theo thời gian

Với thời gian đồng hóa là 30 phút, chúng tôi nhận thấy rằng kích thước hạt phân bố rất đồng đều, đường kính hạt giảm đáng kể so với huyền phù trước đồng hóa (hình 6a). Nếu đồng hóa tiếp tục thì có thể sẽ giảm kích thước hạt nhưng mức độ phân bố có thể bị ảnh hưởng. Do đó chúng tôi chọn khoảng thời gian cách xa (60 phút) xem sự ảnh hưởng. Kết quả cho thấy, sau khi tiếp tục đồng hóa huyền phù thêm 30 phút nữa thì đường kính trung bình hạt giảm đến mức 382nm (hình 6b) nhưng mức độ phân bố không đồng đều, vùng có kích thước lớn(10µm) rộng ra. Như vậy nếu cứ đồng hóa tiếp tục thì kích thước hạt sẽ giảm xuống nhưng đồng thời cũng kết tụ thêm nhiều hạt có kích thước lớn hơn.

3.4. Khảo sát yếu tố nhiệt độ

Qua quá trình khảo sát, kết quả khi đồng hóa trong điều kiện làm mát bằng nước đá (230C) thì kích thước trung bình hạt nhỏ hơn và đồng đều hơn so với điều kiện phòng. Tuy nhiên đồng hóa ở tốc độ cao hơn vẫn có kết quả không tốt như ở tốc độ 1000v/p. Kết quả thể hiện qua các kết quả đo DLS.

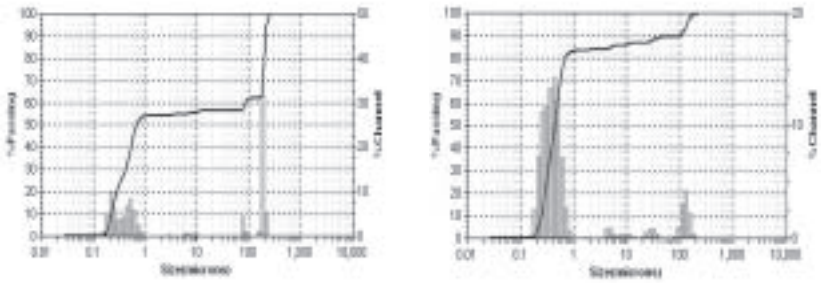
Theo kết quả DLS, khi đồng hóa huyền phù curcumin có đường kính trung bình hạt là 489nm trong thời gian 30 phút với tốc độ 1000v/p với điều kiện ở nhiệt độ phòng thì đường kính trung bình là 422nm. Nhưng khi đồng hóa huyền phù trên cùng thời gian cùng tốc độ nhưng ở điều kiện làm mát thì đường kính trung bình hạt đạt 402nm và vùng có kích thước lớn hầu như đã biến mất (hình 7). Điều này có thể giải thích, khi đồng hóa ở điều kiện thường thì khi máy hoạt động sinh nhiệt, huyền phù nóng lên và dễ kết tụ lại với nhau hơn. Như vậy khi đồng hóa trong điều kiện làm mát thì hạn chế được điều này nên quá trình đồng hóa sẽ tốt hơn.



(a) Nhiệt độ phòng *(b) Làm lạnh*

Hình 7. Phân bố đường kính hạt theo nhiệt độ khi đồng hóa ở tốc độ 1000v/p trên máy SY

Tương tự khi đồng hóa với tốc độ cao hơn, khi đồng hóa ở nhiệt độ thường thì đường kính hạt lớn hơn rất nhiều so với đồng hóa ở điều kiện làm mát. Kết quả được thể hiện trên hình 8.

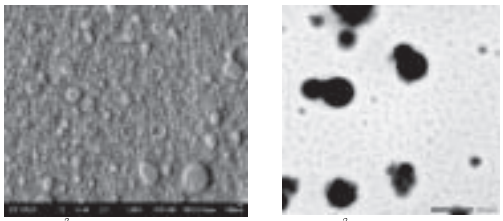


(a) Điều kiện thường *(b) Điều kiện làm mát*

Hình 8. Phân bố đường kính hạt theo nhiệt độ ở tốc độ 1750v/p trên máy SY

Khi đồng hóa ở điều kiện lạnh có đường kính trung bình hạt khá nhỏ (427nm) nhưng ở điều kiện thường thì đường kính trung bình hạt là 660nm. Tuy nhiên kết quả ở điều kiện làm mát thì ở tốc độ này vẫn lớn hơn và phân bố hạt không đều so với khi đồng hóa ở tốc độ 1000v/p ở điều kiện thường. Như vậy, điều kiện tối ưu khi sử dụng máy đồng hóa hiệu SY là huyền phù đem đồng hóa có nồng độ 0,144g/l, tốc độ đồng hóa 1000v/p, thời gian đồng hóa 30 phút và ở điều kiện làm mát.

Sau đây là kết quả chụp TEM và SEM của mẫu đồng hóa ở tốc độ là 1000v/p có nồng độ 0,124g/l và đường kính trung bình hạt là 402nm (Hình 9).



(a) Ảnh SEM *(b) Ảnh TEM*

Hình 9. Hình SEM và TEM của mẫu curcumin sau đồng hóa

Kết quả khi chụp SEM (hình 9a) thì kích thước ở khoảng 350 - 400nm. Và trên hình TEM (hình 9b) thì ta thấy rõ nhân bên trong của hạt có kích thước khoảng 300nm.

4. KẾT LUẬN

Qua những kết quả nghiên cứu trên máy đồng hóa tốc độ cao SY. Kết quả thu được có độ lặp lại cao. Ở đây, kích thước trung bình hạt của curcumin sau khi đồng hóa trên máy SY có thể giảm đến 382nm, tuy nhiên phân bố không đều. Kích thước trung bình hạt của huyền phù nanocurcumin sau đồng hóa có thể đạt được 402nm, phân bố rất đều khi đồng hóa trong điều kiện làm mát ở tốc độ 1000v/p trong khoảng thời gian là 30 phút. Ở đây hoàn toàn không sử dụng hóa chất hỗ trợ tuy kích thước có hơi lớn nhưng an toàn khi sử dụng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1]. Ajay Goel , Ajaikumar B. Kunnumakkara , Bharat B. Aggarwal (2008), *Curcumin as ''Curecumin'': From kitchen to clinic*, biochemical pharmacology (7 5), 7 8 7– 8 0 9

[2]. Guang Liang, Lili Shao, Yi Wang, Chengguang Zhao, Yanhui Chu, Jian Xiao, Yu Zhao, Xiaokun Li, Shulin Yang (2009), Exploration and synthesis of curcumin analogues with improved structural stability both in vitro and in vivo as cytotoxic agents, Bioorganic & Medicinal Chemistry (17), 2623–2631

[3]. Guang Liang, Shulin Yang, Huiping Zhou, Lili Shao, Kexin Huang, Jian Xiao, Zhifeng Huang, Xiaokun Li (2009), Synthesis, crystal structure and anti-inflammatory properties of curcumin analogues, European Journal of Medicinal Chemistry (44), 915 – 919

[4]. Ming Liu, Minggui Yuan, Minxian Luo, Xianzhang Bu, Hai-Bin Luo , Xiaopeng Hu (2010), Binding of curcumin with glyoxalase I: Molecular docking, molecular dynamics simulations, and kinetics analysis, Biophysical Chemistry (147), 28–34

[5]. Maya Mouler Rechtman, Iddo Bar-Yishay, Sigal Fishman, Yaarit Adamovich, Yosef Shaul, Zamir Halpern, Amir Shlomai (2010), Curcumin inhibits hepatitis B virus via down-regulation of the metabolic coactivator PGC-1a, FEBS Letters (584), 2485–2490

[6]. Luca Nardo, Alessandra Andreoni, Maria Bondani, Már Másson, Hanne Hjorth Tønnesen (2009), Studies on curcumin and curcuminoids. XXXIV. Photophysical properties of a symmetrical, non-substituted curcumin analogue, Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology (97), 77–86

[7]. C. Serpia, Z. Stanic, S. Girousi (2010), Electroanalytical study of the interaction between dsDNA and curcumin in the presence of copper(II), Talanta (81), 1731–1734

[8]. Waylon M. Weber, Lucy A. Hunsaker, Steve F. Abcouwer, Lorraine M. Deck, and David L. Vander Jagt (2005), Anti-oxidant activities of curcumin and related enones, Bioorganic & Medicinal Chemistry (13), 3811–3820

[9]. Hailong Yu, Qingrong Huang (2010), Enhanced in vitro anti-cancer activity of curcumin encapsulated in hydrophobically modified starch, Food Chemistry (119), 669–674